三个玫瑰品种花色物质的代谢组学分析

魏丽琴，种培芳*，包新光，何海玲，李清清
（甘肃农业大学林学院 兰州 730070）

摘　要：玫瑰(*Rosa rugosa*)具有很高的观赏效果和商业价值，但其花色比较单一，限制了玫瑰的开发利用及在园林造景中的应用。为了探究‘苦水玫瑰’、‘墨红玫瑰’和‘保加利亚白玫瑰’3 个不同品种玫瑰的呈色物质，该研究利用超高效液相色谱-四级杆-飞行时间质谱(UPLC-Q-TOF-MS)联用检测花瓣类黄酮的种类和含量，通过 KEGG 数据库对差异代谢物进行富集分析，筛选出关键代谢物，并分析与花色表型值的相关性。结果表明：（1）在 3 个不同色系玫瑰花瓣中共检测到 58 种代谢物，其中花青素只有一种为矢车菊-3-O 葡萄糖苷，约占 30.45%；（2）K-means 聚类分析表明，共有 12 种关键代谢物注释到 KEGG 代谢通路中，其中乔松素和杨梅黄酮是决定‘苦水玫瑰’和‘墨红玫瑰’花色呈红色的主要物质，圣草酚、木犀草素和山萘酚是决定‘保加利亚白玫瑰’花色呈白色的主要物质。该研究结果可为具有特定颜色玫瑰的育种提供理论依据，并且促进玫瑰在园林绿化中的应用。

关键词：玫瑰品种，花色物质，代谢组学，UPLC-Q-TOF-MS，相关性

中图分类号： Q943　　　　　　　　**文献标识码**：A

Metabolomics analysis of flower color substances in three *Rose rugosa* cultivars

WEI Liqin, CHONG Peifang*, BAO Xinguang, HE Hailin, LI Qingqing

(*College of Forestry*, *Gansu Agricultural University*, Lanzhou 730070, China)

Abstract: *Rosa rugosa* is a deciduous shrub belonging to *Rosa* L. in the Rosaceae family. It has high ornamental value and commercial value, but its single color limits the development and utilization of rose and its application in landscape architecture. In order to explore the coloring substances of three different varieties of roses, ‘*Rosa rugosa* × *Rosa sertata* ’, ‘Rosa Crimson Glory’ and ‘Rosa alba’, this study used ultra-high performance liquid chromatography-four-pole time-of-flight mass spectrometry (UPLC-Q-TOF-MS) to detect thetypes and contents of flavonoids in petals. The KEGG database was used to enrich the differential metabolites, screen out the key metabolites, and analyze thecorrelation with the phenotypic value of flower color. The results were as follows: (1) A total of 58 metabolites were detected in petals of different rose

基金项目：甘肃省自然科学基金(20JR5RA035)[Supported by Gansu Provincial Natural Science Foundation (20JR5RA035)]。

第一作者：魏丽琴（1996-），硕士研究生，研究方向为园林植物与应用，（E-mail）2570766505@qq.com。
***通信作者**：种培芳，博士，教授，研究方向为园林植物及荒漠植物生理生态，（E-mail）zhongpf@gsau.edu.cn。

varieties, of which only one anthocyanin was cyanidin-3-O-glucoside, accounting for 30.45%. (2) K-means clustering analysis showed that a total of 12 key metabolites were annotated to the KEGGmetabolic pathway. Among them, pinocembrin and myricetin were the main substances that determined the red color of '*Rosa rugosa* × *Rosa sertata*' and 'Rosa Crimson Glory', and eriodictyol, luteolin and kaempferol were the main substances that determined the white color of 'Rosa alba'. In conclusion, this study can provide a theoretical basis for the breeding of roses with specific colors and promote the application of roses in landscaping.

Keywords: *Rosa rugosa* cultivars, flower color substances, metabolomics, UPLC-Q-TOF-MS, correlation

花色是园林植物的重要特征，决定着观赏植物的观赏价值和商业价值(黄沙沙，2017)。近年来，有学者研究发现，影响花色形成主要因素是植物色素种类和含量。植物色素的种类主要有三大类：类黄酮（Flavonoids）、类胡萝卜素（Carotenoids）和生物碱类（Alkaloids）(李秋琳等，2021；赵君等，2021)，其中类黄酮次生代谢产物的积累是影响花色形成的重要因素。花色苷是一种在植物中以糖苷形式出现的花青素，它是花瓣中红色、蓝色、紫色等颜色的主要成分，查尔酮是黄色花朵中一种重要的颜色成分，但黄酮、黄酮醇通常都是无色或淡白色(周琳等，2009；林启芳等，2021)。在杜鹃花科植物中研究发现，花色取决于类黄酮物质的种类，其中花色苷对花色起关键作用，而黄酮醇只起到辅助呈色的作用(王禹等，2020；张卉等，2022)。近年来，随着植物代谢组技术的发展和应用，许多观赏植物的呈色机理得到了初步的研究，如山茶(*Camellia japonica*)、山樱花（*Prunus serrulata*）、樱桃（*P. pseudocerasus*）(Guo et al.，2018)、向日葵(*Helianthus annuus*)(赵君等，2021)等，施蕊等利用代谢组学阐明了不同代谢产物及其代谢途径调节了滇红和墨红玫瑰颜色的差异(施蕊等，2020)。综上可见，目前关于观赏植物花色还在不断的研究中，但大多数研究认为植物色素种类、含量和代谢合成途径是影响植物花色多样的重要因素(Fu et al.，2021；魏丽琴，2023)。

玫瑰（*Rosa rugosa*）是蔷薇科（Rosaceae）蔷薇属（*Rosa* L.）落叶灌木，原产于中国，具有悠久的栽培历史，是集兼具观赏、经济、生态和食用功能的植物，拥有“花中皇后”和“爱情之花”的美誉，并被列为我国二级保护植物(张玲等，2015)。我国栽培的玫瑰品种极为丰富，据不完全统计，有重瓣、单瓣、复瓣、切花等各种类型的玫瑰品种，包括甘肃的‘苦水玫瑰’（‘*Rosa rugosa* × *Rosa sertata*’），为中国传统玫瑰与钝齿蔷薇的自然杂交种，具有花小而多、紫红色、有芳香、出油率高的特点，也是重要的食用重瓣玫瑰（Wu，2020）；‘墨红玫瑰’（‘Rosa Crimson Glory’），又称‘朱墨双辉’，杂种‘香水月季’（‘Rosahvbrida Hvbird Tea Rosa’）和杂种‘长春月季’（‘Hybrid Perpetual Rosa’）杂交种，花朵为深红色，具有花期长、香味浓郁、产量高等特点，被作为云南食用玫瑰的主要品种而广泛种植（宁

忻，2021）；‘保加利亚玫瑰’（‘Rosa alba’），又称 ‘突厥玫瑰’，花朵为淡粉色、粉红色和白色，具有产量高、油量高、品质好、含油量高等特点，也是一种可以提取玫瑰精油和加工玫瑰纯露的优质食用玫瑰品种（赵伟巍，2017）。但玫瑰作为一种重要的园林观赏植物，其花色主要为红色、粉色、白色、紫色，少见其他花色，极大地限制了玫瑰在园林绿化中的应用(Cheng et al.，2021)。目前国内外学者对于玫瑰的研究主要集中在挥发性油的提取和利用、玫瑰资源的开发和保护、玫瑰遗传多样性的分析和分子标记、玫瑰相关食品的生产、玫瑰的转基因调控花色技术、玫瑰栽培和繁殖技术等研究(邹凯，2018)。除此之外，虽然已经有了一些关于玫瑰花色转基因调控技术的报道，并取得了一定的研究成果，但是对于食用玫瑰花色的形成以及花色素组成成分的研究仍然不够完善，且对玫瑰花呈色的物质基础还缺乏系统地梳理，这将阻碍了玫瑰花色素的开发利用及在园林绿化中的应用(徐宗大等，2011；杨志莹等，2011)。

本研究主要以‘苦水玫瑰’‘墨红玫瑰’和‘保加利亚白玫瑰’3 个不同花色的食用重瓣玫瑰为研究对象，通过靶向代谢组学技术探究影响不同品种玫瑰花呈色的关键代谢物成分，拟探讨以下问题：（1）分析这 3 个不同花色玫瑰品种中类黄酮化合物种类及其含量的差异；（2）对不同品种玫瑰花瓣中的差异代谢物及差异代谢通路进行筛选，分析影响玫瑰花呈色的主要代谢物成分有几种。可为培育不同花色的玫瑰品种提供理论依据，从而促进玫瑰在园林绿化中的应用。

1 材料与方法

1.1 材料采集和处理

试验样品以紫红色‘苦水玫瑰’（‘*Rosa rugosa* × *Rosa sertata*’，KSMG）、红色‘墨红玫瑰’（‘Rosa Crimson Glory’，MHMG）和白色‘保加利亚白玫瑰’（‘Rosa alba’，BMG）3 个栽培玫瑰。花瓣材料采自在甘肃省永登县玫瑰研究所玫瑰种质资源基地。每种试材选择生长势一致，无病害，管理统一的玫瑰植株 3 株。在 2022 年 5 月 20 日和 6 月 5 日采集盛开期的花瓣样品（图 1）。采集标本时，从四个方向分别抽取不同的花瓣样本，然后进行混合，每一品种分别进行 3 次生物学重复测定。取样后将花瓣样品装入具有编号的密封袋内，将其放入冰盒中以防其凋谢，随后放置于-80 ℃的冰箱保存用于后续代谢组学分析(王峰等，2017)。


‘苦水玫瑰’
‘*Rosa rugosa* × *Rosa sertata*’


‘墨红玫瑰’
‘Rosa Crimson Glory’


‘保加利亚白玫瑰’
‘Rosa alba’

图 1 3 个玫瑰材料表型性状图

Fig.1 Phenotypic traits of flower of three rose materials

1.2 方法

1.2.1 花色表型测定

花色利用国际照明委员会制定的 CIE $L^*a^*b^*$表色系法（王峰等，2017；李辛雷等，2019）测定，采集新鲜花瓣，用 WR18 精密色差仪（深圳市威福光电科技有限公司）测定玫瑰花瓣的亮度 L^*、红度 a^*和黄度 b^*，彩度 C^*和色调角 h° 实现花色的数字化（张玲，2015）。在光源 C/2° 下，将集光孔对准花瓣上表皮中央部位进行测量，每样品分别测量 3 朵花的花色参数，取平均值(Wang et al.，2004)。

1.2.2 类黄酮提取

将新鲜花瓣进行-80 ℃冷冻干燥后，将其粉碎为粉末状（60 Hz，30 s），将 100 mg 的试样加入 5 mL 离心管中，加入提取液（75%甲醇含 1%乙酸）3 000 μL，涡旋 30 s，40 Hz 匀浆 4 min，冰水浴超声 30 min；在 4 ℃，12 000 r·min^{-1}[离心力 13 800（×*g*），半径 8.6 cm]离心 15 min；取 2 500 μL 的上清液，然后用氮气吹干，再用 1 500 μL 提取液 B（50%甲醇含 0.1%甲酸，含内标）复溶；涡旋 1 min 后冰水浴超声 15 min，4 ℃，1 2000 r·min^{-1}[离心力 13 800（×*g*），半径 8.6 cm]离心 15 min；上清通过 0.22 μm 滤膜过滤后，取于 2 mL 进样瓶，各样品均匀混合，制作 QC 样品，上机检测与分析(王方方等，2017；Daneshpajooh et al.，2019；张培月等，2022)。

1.2.3 类黄酮定性和定量分析

利用 UPLC-Q-TOF-MS 联用技术对花瓣中类黄酮进行定性与定量分析。ACQUITYTM UPLC I-Class 超高效液相色谱系统(Waters Corporation，Milford，MA，USA)，Xevo G2-XSQTof MS 质谱系统(Waters Corporation，Manchester，UK)，UNIFI 1.8 软件系统。色谱柱

为购自 Waters 的 UPLC BEH C18 色谱柱(1.7 μm, 2.1 mm × 150 mm)。以 0.1%甲酸水溶液(A)和乙腈(B)为液相色谱流动相，流速 0.3 $mL\cdot min^{-1}$；洗脱程序为 0~0.5 min，10% B；0.5~1 5 min，10%~60% B；15~16.01 min，60%~98% B；16.01~18.00 min，98% B；18.00~18.01 min，98%~10% B；18.01~20 min，10% B。设定了 40 ℃的柱温箱、8 ℃的自动进样器和 2 μL 的进样量。数据采集以多反应监测(MRM)模式进行质谱分析(赵君等，2021)。

1.3 数据分析

本研究通过色差仪测定玫瑰花瓣的亮度 L^*、红度 a^*和黄度 b^*值，计算出 $C^*=(a^{*2}+b^{*2})^{1/2}$；$h^{\circ}$ =arctan（a^*/b^*）。应用 SPSS22.0 软件对花色与关键代谢物进行相关性分析。使用上海百趣生物医学科技有限公司 UPLC-MS/MS 检测平台测定不同花色玫瑰中类黄酮代谢物。采用 Metabo Analyst 5.0 软件，对所有样本中待测物的定性定量进行分析。用无监督模式对各组样本之间的代谢物进行多元统计分析，并且挑选出 $P<0.05$ 且 VIP≥1 的显著差异代谢产物。利用 KEGG 数据库、MB ROLE 2.0 和微生信网站进行通路富集分析。

2 结果与分析

2.1 3 个玫瑰品种的花色特征

花色在 CIE$L^*a^*b^*$表色系统坐标轴的分布上，L^*为明暗度变化，随 L^*值越大花瓣的亮度越高。由表 1 可知，相比于‘墨红玫瑰’和‘苦水玫瑰’的 L^*值，‘保加利亚白玫瑰’的 L^*最高为 78.41，花色更偏向于红色。色相 a^*由正值到负值，是红色到绿色的变化程度，‘墨红玫瑰’的 a^*值比‘保加利亚白玫瑰’高 106.46，‘墨红玫瑰’的花色偏向于红色。色相 b^*由正值到负值，是黄色到蓝色的变化程度，‘保加利亚白玫瑰’的 b^*值介于两者之间，花色为白色且带黄晕。彩度 C^*数值越大，颜色越鲜明，表中‘墨红玫瑰’C^*值最大，为 110.37，颜色偏向于深红色，其次是‘苦水玫瑰’C^*值为 71.60，花色偏向紫红色。色调角 h° 是对 7 种颜色红、橙、黄、绿、青、蓝、紫色调的描述，红色区域分布于 0°附近，在 90°左右是黄色区域，270°到 360°是经过紫色区域变成了红色区域。‘墨红玫瑰’和保加利亚白玫瑰’h° 值处于 0°~90°之间，属于红色-黄色范围；而‘苦水玫瑰’h° 值处于 270°~360°之间，经过了紫色区域。

表 1 不同色系玫瑰的花色表型均值

Table 1 The average values of L^*, a^*, b^* in rose of different flower color groups

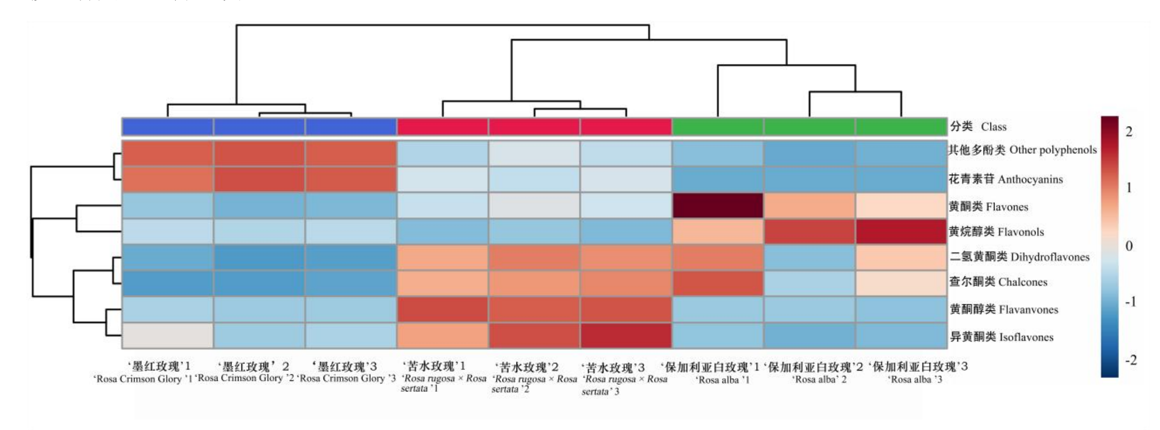
品种 Cultivar	明度（L^*）Brilliance	红度（a^*）Redness	黄度（b^*）Yellowness	彩度（C^*）Chroma	色相角（h°）Hue angle
‘墨红玫瑰’ ‘Rosa Crimson Glory’	0±0.00c	108.24±8.06a	20.68±3.10a	110.37±7.41a	11.12±2.25c
‘保加利亚白玫瑰’ ‘Rosa alba’	78.41±0.99a	1.78±0.19c	6.75±0.40b	6.98±0.44c	75.30±0.62b
‘苦水玫瑰’ ‘*Rosa rugosa* × *Rosa sertata*’	24.74±1.06b	66.05±2.20b	-27.61±0.79c	71.60±2.20b	337.29±0.65a

注：表中数据为平均值±标准差。不同小写字母代表不同花色多重比较，Duncan 检验在 *P*=0.05 时有显著性差异。

Note: Values are $\bar{x} \pm s$. Different lowercase letters in the same column represented multiple comparisons of different flower colors. Duncan test showed significant differences at *P*=0.05.

2.2 3 个玫瑰品种花瓣中类黄酮化合物成分与含量

由图 2 可知，3 种玫瑰样品中共检测到类黄酮类代谢物 58 种，其中有 24 种黄酮类约占 18.85%，9 种黄酮醇类约占 31.89%，1 种花青素类约占 30.45%，8 种黄烷醇类约占 14.49%，6 种二氢黄酮类约占 0.08%，3 种异黄酮类，2 种查尔酮约占 0.09%和 5 种其他及多酚类物质约占 4.15%。通过检测花瓣样品及代谢物进行聚类分析发现，3 种玫瑰花瓣中的类黄酮积累模式存在显著差异。



在规范化处理后，不同颜色表示类黄酮代谢产物的含量，红色表示高含量，蓝色表示低含量。

After normalization, different colors indicate the contents of flavonoid metabolites, red for high content and blue for low content.

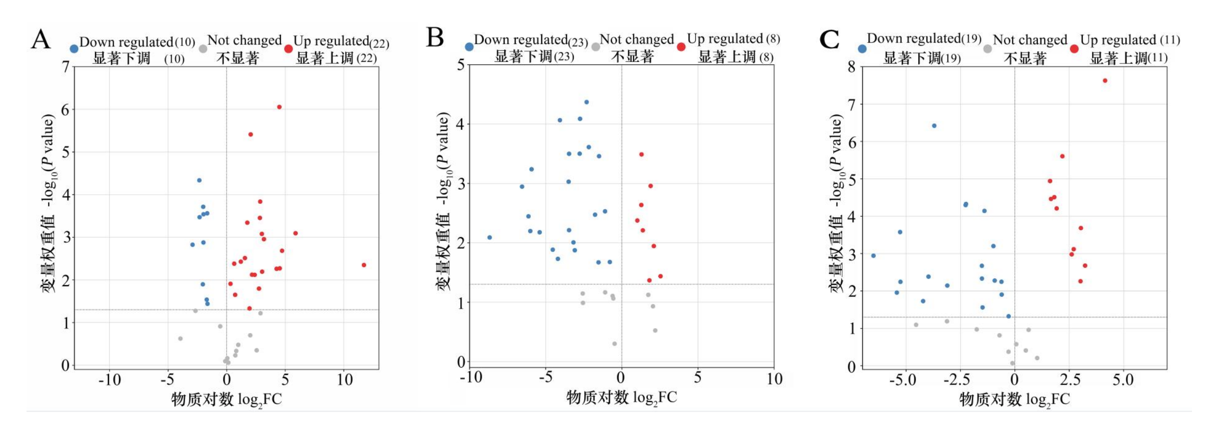
图 2 不同色系玫瑰花瓣样品中类黄酮物质相对含量

Fig.2 Relative content of flavonoids in different color rose petal samples

2.3 差异代谢物筛选分析

根据 P<0.05 且 VIP≥1 筛选各组间的差异类黄酮类代谢物，差异倍数（fold_change）表示不同颜色花瓣样品间代谢物表达量的比值。如图 3：A-C 所示，‘墨红玫瑰’与保加利亚白玫瑰’间存在的差异类黄酮类代谢物有 45 种，其中显著上调的代谢物共有 22 种，显著下调的代谢物 10 种；保加利亚白玫瑰’与‘苦水玫瑰’间存在的差异类黄酮类代谢物有 41 种，其中显著上调的代谢物共有 8 种，显著下调的代谢物 22 种；‘墨红玫瑰’与‘苦水玫瑰’间存在的差异类黄酮类代谢物有 41 种，其中显著上调的代谢物共有 11 种，显著下调的代谢物 14 种。

研究在不同色系玫瑰中类黄酮代谢物相对含量的变化趋势，对所有差异代谢物相对含量的平均值进行 z-score 标准化，然后在进行 K 均值（K-means）聚类分析。花色由白色至紫红色至深红色的变化中（表 2），呈升高趋势的差异代谢物有 33 种；呈降低趋势的差异代谢物有 8 种。在花瓣颜色由白色至紫红色至深红色变化中，黄酮类和黄酮醇类物质含量有的升高有的降低，而花青素类的矢车菊-3-O 葡萄糖苷含量呈升高趋势，推测矢车菊-3-O 葡萄糖苷是玫瑰花瓣呈红色的主要色素成分。



差异代谢物的火山图，每个点代表一种代谢产物。**A.** MHMG/BMG 比较组；**B.** BMG/KSMG 比较组；**C.** MHMG/KSMG 比较组。图中蓝色的点表示下调的代谢物，红色的点表示上调的代谢物，而灰色的点表示差异不明显的代谢物。

Volcanogram of differential metabolites,each point represents a metabolite. **A**. MHMG/BMG comparison group; **B**. MHMG/KSMG comparison group; **C**. MHMG/BMG comparison group. The blue dots in the figure represent down-regulated metabolites, the red dots in the figure represent up-regulated metabolites, and the gray dots represent metabolites with no significant differences.

图 3 玫瑰花三个花色品种差异代谢物分析

Fig.3 Analysis on different metabolites of three cultivars of *Rosa rugosa*

表 2 白色至紫红色至深红色花瓣中升高和降低的差异代谢物

Table 2 The list of metabolites that increases or decreases during the color change from white to purple to deep red petal

物质 Compound	二级分类 Class II	变化趋势 Variation trend

矢车菊-3-O 葡萄糖苷 Cyanidin-3-O-glucoside	花青素类 Anthocyanins	升高 Up
紫杉叶素 Taxifolin	二氢黄酮类 Dihydroflavones	升高 Up
黄杞苷 Engeletin		升高 Up
圣草酚 Eriodictyol		升高 Up
槲皮苷 Quercitrin	黄酮类 Flavones	升高 Up
表儿茶素 L-Epicatechin		升高 Up
斯皮诺素 Spinosin		升高 Up
乔松素 Pinocembrin		升高 Up
柚皮素 Naringenin		升高 Up
异鼠李素 Isorhamnetin		升高 Up
杨梅苷 Myricitrin		升高 Up
牡荆素 Vitexin		升高 Up
香叶木素 Diosmetin		升高 Up
水仙苷 Narcissoside		升高 Up
杨梅黄酮 Myricetin		升高 Up
芹菜素 Apigenin		升高 Up
山奈苷 Kaempferitrin		升高 Up
染料木素 Genistein		升高 Up
芹菜素-7-O-葡糖苷 Apigenin-7-glucoside		升高 Up
芦丁 Rutin	黄酮醇类 Flavonols	升高 Up
山奈酚-3-O-芸香糖苷 Kaempferol-3-O-rutinoside		升高 Up
山奈素 kaempferide		升高 Up
儿茶素 Cianidanol	黄烷醇类 Flavanvones	升高 Up
（-）-表儿茶素没食子酸酯 (-)-Epicatechin gallate		升高 Up
原花青素 B1 Procyanidin B1		升高 Up
(+)-没食子儿茶素 Gallocatechin		升高 Up
原花青素 B2 Procyanidin B2		升高 Up
（-）-表没食子儿茶素 (-)-Epigallocatechin		升高 Up
(-)-表儿茶素没食子酸酯 (-)-Epigallocatechin gallate		升高 Up
(-)-没食子儿茶素没食子酸酯 (-)-Gallocatechin gallate		升高 Up
原儿茶酸 protocatechuic acid	酚酸类 Phenolic acids	升高 Up
柚皮素查尔酮 Chalconaringenin	查尔酮类 Chalcones	升高 Up
鸢尾黄素 Tectorigenin	异黄酮类 Isoflavones	升高 Up
扁蓄苷 Avicularin	黄酮类 Flavones	降低 Down
银锻苷 Tiliroside		降低 Down
木犀草素 Tiliroside		降低 Down

槲皮素-3-O 葡萄糖苷 Isoquercitrin	黄酮醇类 Flavonols	降低 Down
槲皮素-3-D-半乳糖 Hyperoside		降低 Down
槲皮素 Quercetin		降低 Down
山柰酚 kaempferol		降低 Down
紫云英苷 Astragalin		降低 Down

2.4 差异代谢物的 KEGG 功能注释及富集分析

通过 K-means 聚类分析中所得呈上升趋势和下降趋势的类黄酮类代谢物进行了富集分析，发现共有 12 种关键代谢产物成功注释上 KEGG 代谢通路，并且关键差异代谢物不止参与 1 条代谢通路，有可能 2 条甚至多条代谢通路（表 3）。3 种材料中相对含量呈上升趋势的 33 种代谢物中有 9 种代谢物被注释上，其中牡荆素、乔松素参与了类黄酮生物合成；圣草酚和（-）-表没食子儿茶素参与了类黄酮生物合成和次生代谢物生物合成；杨梅素（杨梅黄酮）参与了类黄酮生物合成、黄酮和黄酮醇生物合成、次生代谢物的生物合成。柚皮素、儿茶素和柚皮素查尔酮参与了类黄酮生物合成、次生代谢物的生物合成、苯丙烷生物合成和代谢途径 4 条代谢通路。芹菜素类黄酮生物合成、黄酮和黄酮醇生物合成、次生代谢物的生物合成、苯丙烷的生物合成和代谢途径 5 条代谢通路。然而 8 种呈下降趋势的代谢物中只有 3 种被注释上，其中槲皮素、山萘酚和木犀草素均参与了类黄酮生物合成、黄酮和黄酮醇生物合成、次生代谢物的生物合成和代谢途径 4 条代谢。

表 3 12 种成功注释上 KEGG 代谢通路的关键代谢产物

Table 3 12 key metabolites of KEGG metabolic pathway successfully annotated

物质 Compound	二级分类 Class II	KEGG 注释结果 KEGG map
柚皮素 Naringenin（Na）	黄酮类 Flavones	Map00941，Map01110，Map01061，Map01100
芹菜素 Apigenin（Ap）		Map00941，Map00944，Map01110，Map01061，Map01100
牡荆素 Vitexin（Vi）		Map00941
乔松素 Pinocembrin（Pi）		Map00941
杨梅黄酮 Myricetin（My）		Map00941，Map00944，Map01110
木犀草素 Luteolin（Lu）		Map00941，Map00944，Map01110，Map0110
槲皮素 Quercetin（Qu）	黄酮醇 Flavonols	Map00941，Map00944，Map01110，Map0110
山萘酚 Kaempferol（ka）		Map00941，Map00944，Map01110，Map0110，Map01061
儿茶素 Cianidanol（Ci）	黄烷醇 Flavanvones	Map00941，Map01110，Map01061，Map01100
（-）-表没食子儿茶素 (-)-Epigallocatechin（(-)-Ep）		Map00941，Map01110

圣草酚 Eriodictyol（Er）	二氢黄酮类 Dihydroflavones	Map00941，Map01110
柚皮素查尔酮 Chalconaringenin（Ch）	查尔酮类 Chalcones	Map00941，Map01110，Map01061，Map01100

2.6 3 个玫瑰品种玫瑰花瓣表型与关键代谢物含量的关系

玫瑰花色由白到紫红到深红变化中，相对含量变化呈升高趋势（9 种）和降低趋势（3 种）的代谢物成功注释上类黄酮代谢通路。利用花色表型值与这 12 种关键代谢物含量进行相关性分析，由表 4 可知，不同品种玫瑰花之间明度 L^*值与红度 a^*值和彩度 C^*均呈极显著负相关（P<0.01），随着花瓣明度的增加，花瓣表面逐渐变亮，花瓣越偏向白色。乔松素和杨梅黄酮与明度 L^*呈显著负相关（P<0.01，P<0.05），乔松素与红度 a^*值和彩度 C^*值呈显著正相关（P<0.01），说明乔松素和杨梅黄酮含量的积累显著增强花色鲜艳程度，降低花瓣表面的亮度。圣草酚、木犀草素和山萘酚与明度 L^*显著正相关（P<0.01），与红度 a^*值和彩度 C^*呈显著负相关（P<0.01），说明其含量的积累显著增强花瓣表面的亮度，花瓣偏向白色。木犀草素与黄度 b^*值呈正相关，与色相角 h° 呈负相关，其含量积累越多，花色越接近黄色。色相角 h° 与红度 a^*和彩度 C^*呈显著负相关（P<0.01），随着红度的增加，花瓣的色相角降低，花色就越接近红色。可见，乔松素和杨梅黄酮是影响玫瑰花瓣呈现红色的主要物质，其含量的增加导致花色变红，并且降低了花瓣的明度；圣草酚、木犀草素和山萘酚是影响玫瑰花瓣呈现白色的主要物质，其含量的增加导致花色变白，其中木犀草素与 b^*呈正相关，决定了玫瑰花瓣呈现黄色的主要物质，这与‘保加利亚白玫瑰’花瓣的黄晕呈显著正相关。

表 4 花色表型与关键代谢物的相关性分析

Table 4 Correlation analysis between flower color phenotype and key metabolites

指标 Indicator	L^*	a^*	b^*	C^*	$h^°$	Na	Ap	Vi	Er	Ch	Ci	Pi	My	(-)-Ep	Qu	Lu	ka
L^*	1																
a^*	-0.985**	1															
b^*	-0.073	0.142	1														
C^*	-0.988**	1.000**	0.120	1													
$h^°$	-0.023	-0.069	-0.985**	-0.045	1												
Na	0.288	-0.364	-0.915**	-0.345	0.902**	1											
Ap	-0.214	0.128	-0.939**	0.151	0.971**	0.827**	1										
Vi	0.132	-0.217	-0.969**	-0.195	0.970**	0.926**	0.927**	1									
Er	0.912**	-0.884**	0.031	-0.891**	-0.120	0.284	-0.293	0.003	1								
Ch	0.316	-0.391	-0.910**	-0.372	0.895**	0.999**	0.815**	0.922**	0.306	1							
Ci	-0.547	0.472	-0.786*	0.493	0.840**	0.586	0.919**	0.749*	-0.599	0.564	1						
Pi	-0.912**	0.870**	0.121	0.874**	-0.005	-0.275	0.153	-0.176	-0.798**	-0.302	0.450	1					
My	-0.700*	0.626	-0.628	0.644	0.708*	0.461	0.834**	0.607	-0.682*	0.436	0.962**	0.594	1				
(-)-Ep	-0.460	0.379	-0.813**	0.400	0.870**	0.669*	0.957**	0.810**	-0.505	0.650	0.973**	0.353	0.951**	1			
Qu	-0.360	0.439	0.928**	0.417	-0.902**	-0.880**	-0.795*	-0.934**	-0.173	-0.887**	-0.564	0.394	-0.365	-0.609	1		
Lu	0.865**	-0.812**	0.414	-0.826**	-0.500	-0.203	-0.649	-0.343	0.803**	-0.174	-0.867**	-0.777*	-0.939**	-0.810**	0.111	1	
ka	0.876**	-0.835**	0.272	-0.846**	-0.355	0.031	-0.512	-0.219	0.950**	0.051	-0.767*	-0.723*	-0.827**	-0.690*	0.057	0.888**	1

注：部分缩写具体见表 3。*表示差异达显著水平（P<0.05）；**表示差异达极显著水平（P<0.01）。

Note: See Table 3 for some abbreviations. * represents a significant correlation ($P < 0.05$); ** represents a extremely significant correlation ($P < 0.01$).

3 讨论与结论

类黄酮化合物是参与花色形成的主要色素成分之一，其中花色苷是类黄酮化合物的重要组成成分，花色苷含量差异直接影响植物的花色(钟培星，2012)。已有研究表明，矢车菊素及其衍生物广泛作用于植物红色花瓣中（Khoo et al., 2017），李辛雷等 (2019)发现红色山茶花瓣中主要的花色苷成分是矢车菊素-3-O-葡萄糖苷；有学者发现 30 种不同花色的杜鹃花中红色品种中矢车菊素的含量最高（Du et al., 2016），由此可见，矢车菊素是植物花瓣呈红色的主要色素成分，这与本研究研究的结果一致。在此之前，有研究发现矢车菊素是墨红玫瑰的主要类黄酮成分，并且其含量要显著高于其他物质（金晶等，2018）；还有研究发现苦水玫瑰红色素的主要成分为矢车菊-3-葡萄糖 (李文絮，1997；巩慧玲等，2019)，本研究通过检测这 3 种玫瑰花瓣中类黄酮化合物，共检测到 58 种类黄酮代谢物，其中只检测出一种花色苷为矢车菊-3-O 葡萄糖苷，约占玫瑰类黄酮总量的 30.45%。墨红玫瑰和苦水玫瑰的矢车菊-3-O 葡萄糖苷分别占其类黄酮总量的 47.75%和 15.55%远高于保加利亚白玫瑰的 0.04%，由此表明矢车菊素在红色花瓣呈色中起到重要作用，可以推断出矢车菊-3-O 葡萄糖苷是苦水玫瑰和墨红玫瑰呈红色的主要物质。

为进一步探究玫瑰花不同花色形成的差异代谢物，大量研究结果表明，植物的花色形成受到色素种类和含量的影响（施蕊等，2020；Han et al.,2020）。‘白紫枝’玫瑰花瓣中仅含有黄酮类化合物，开粉色花的‘粉紫枝’玫瑰和紫色花的‘紫枝’玫瑰中含黄酮和花青素(张玲，2015)；白色山茶品种‘银白查理斯’和‘白凤’中含量最高的黄酮类化合物是木犀草素和槲皮素-3-O 葡萄糖苷(李辛雷等，2019)；白蔷薇花和白菊花中只含有浅黄色或接近无色的黄酮和黄酮醇等色素(周琳等，2009)，上述结论和本研究的结果相类似。本研究通过 P<0.05 且 VIP ≥1 筛选得到 12 种关键代谢产物，分别有 6 种黄酮类， 2 种黄烷醇类，2 种黄酮醇类，1 种二氢黄酮类，1 种查尔酮类。其中黄酮类乔松素和杨梅黄酮的含量积累会影响植物的明度 L^*、红度 a^*和彩度 C^*，其含量越高花色越鲜艳，花瓣更偏向红色；而黄酮类木犀草素、二氢黄酮类圣草酚和黄酮醇类山萘酚的含量积累也会影响植物的明度 L^*、红度 a^*和彩度 C^*，其含量越高花色越明亮，花瓣更偏向于白色，其中木犀草素与黄度 b^*呈正相关，其含量的增加导致花色偏向黄色，是决定玫瑰花瓣呈现黄色的主要成分，这与‘保加利亚白玫瑰’花瓣的黄晕呈显著正相关。据此，乔松素、杨梅黄酮、木犀草素、圣草酚和山奈酚均是影响玫瑰花呈色的关键代谢物。

综上可见，‘苦水玫瑰’、‘墨红玫瑰’和‘保加利亚白玫瑰’3 种不同花色的玫瑰中检测到类黄酮代谢物种类和含量存在显著的差异，这对玫瑰花色有很大的影响。结果表明，在 3 种不同花色玫瑰样品中共检测到有 58 种类黄酮类代谢物，其中矢车菊-3-O 葡萄糖苷、乔松素和杨梅黄酮是影响苦水玫瑰和墨红玫瑰呈红色的主要色素成分，圣草酚、木犀草素和山萘酚是影响保加利亚白玫瑰呈白色的主要色素成分。

参考文献：

CHENG BU, WAN HH, HAN Y, et al., 2021. Identification and QTL analysis of flavonoids and carotenoids in tetraploid roses based on an ultra-high-density genetic map[J]. Front Plant Sci, 12:682305.

DANESHPAJOOH L, NAJAFI GHEZELJEH T, et al., 2019. Comparison of the effects of inhalation aromatherapy using Damask Rose aroma and the Benson relaxation technique in burn patients: A randomized clinical trial[J]. Burns, 45(5):1205-1214.

FU MY, YANG X, ZHENG JR, et al., 2021. Unraveling the regulatory mechanism of color diversity in *Camellia japonica* petals by integrative transcriptome and metabolome analysis[J]. Front Plant Sci, 12:685136.

GUO X, WANG Y, ZHAI Z, et al., 2018. Transcriptomic analysis of light-dependent anthocyanin accumulation in bicolored cherry fruits[J]. Plant Physiol Bloch, 130(8): 663-677.

GONG HL, XU J, TIAN Z, et al., 2019. Preliminary study on the extraction and stability of red pigmentfrom kushui rose[J]. Storage Proc, 19(4): 112-118.[巩慧玲， 徐进， 田泽， 等，2019. 苦水玫瑰花红色素提取及其稳定性初步研究[J]. 保鲜与加工，19(4)：112-118.]

HAN ML, YIN J, ZHAO YH, et al., 2020. How the color fades from *Malus halliana* flowers: transcriptome sequencing and DNA methylation analysis[J]. Front Plant Sci, 11:576054.

HUANG SS, 2017. Screening of candidate genes related to flavonoids in Rosaceae[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University. [黄沙沙， 2017. 蔷薇科植物类黄酮合成相关候选基因的筛选[D]. 武汉：华中农业大学.]

JING J, YANG X, ZHOU W, et al., 2019. Research progress of flavonoids on *Rosa rugosa* Thunb[J]. J Anhui Agric Sci, 47(16): 14-17. [金晶，阳鑫，周薇，等， 2019. 玫瑰类黄酮研究进展[J]. 安徽农业科学， 47(16)：14-17.]

LI QL, LI Y, CHENG W, et al., 2021. Metabolomics reveals the variation of flavonoids content in petals of cotton with different colors [J]. Cotton Sci, 33(6): 482-492.[李秋琳，李燕，陈伟， 等，2021. 基于广泛靶向代谢组学的不同颜色棉花花瓣中类黄酮成分差异分析[J]. 棉花学报，33(6)：482-492.]

LI WX, 1997. A study on the chemical component and properties of “Ku-shui” Rose[J]. J Teach Coll Qingdao Univ, 16(2): 34-37.[李文絮，1997. 苦水玫瑰花的色素化学成份及性质研究[J]. 青岛大学师范学院学报，16(2)：34-37.]

LI XL, WANG JT, SUN ZY, et al., 2019. Flavonoid components and their relationship with flower colorsin five species of *Camellia* section *Chrysantha*[J]. Chin J Ecol, 38(4): 961-966.[李辛雷，王佳童，孙振元，等，2019. 五种金花茶组植物类黄酮成分及其与花色关系 [J]. 生态学杂志，38(4)：961-966.]

LI XL, WANG JT, SUN ZY, et al., 2019. Anthocyanin components and their relationship with flower colors in petals of *Camellia japonica* ‘Chidan’ and its bud mutation cultivars[J]. Sci

Silv Sin, 55(10): 19-26.[李辛雷，王佳童，孙振元，等，2019. 山茶‘赤丹’及其芽变品种花瓣中花青苷成分与花色的关系[J]. 林业科学，55(10)：19-26.]

LIN QF, LIU TT, LIU JR, et al., 2021. Flavonoids composition and content in petals of *Lagerstroemia* and *Heimia* species and cultivars[J]. Acta Hortic Sin, 48(10): 1956-1968.[林启芳，刘婷婷，刘洁茹，等，2021. 紫薇属与黄薇属植物花瓣类黄酮组成及含量分析[J]. 园艺学报，48(10)：1956-1968.]

NING X, FANG W, DONG HY, et al., 2021. Analysis and evaluation of the nutritional components in Rosa Crimson Glory[J]. Mod Food, 7(5): 225-228. [宁忻，方伟，董海燕，等，2021. 云南墨红玫瑰主要营养成分分析[J]. 现代食品，7(5)：225-228.]

KHOO HE, AZLAN A, TANG ST, et al., 2017. Anthocyanidins and anthocyanins: colored pigmentsas food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits[J]. Food Nutr Res, 61: 1361779.

SHI R, QIAN XH, LUAN YP, et al., 2020. Metabolomics reveals the causes of different flower colors about Yunnan roses[J]. J Yunnan Univ Trad Chin Med, 43(2): 18-24.[施蕊，钱晓慧，栾云鹏，等，2020. 基于代谢组学分析云南滇红和墨红玫瑰花色差异[J]. 云南中医学院学报，43(2)：18-24.]

WANG FF, KANG Y, ZHANG Q, et al., 2017. Analysis of flavonoids in rose dregs of Miaofeng Mountain in Beijing by UPLC/Q-TOF-MS[J]. Mod Chin Med, 19(11): 1550-1554.[王方方，康莹，张权，等，2017. 北京妙峰山玫瑰花渣中黄酮类成分的 UPLC/Q-TOF-MS 分析[J]. 中国现代中药，19(11)：1550-1554.]

WANG F, YANG SH, LIU XY, et al., 2017. The diversity of petal colors and its relation to anthocyanins in rose germplasms[J]. Acta Hortic Sin, 44(6): 1125-1134.[王峰，杨树华，刘新艳，等，2017. 月季种质资源花色多样性及其与花青苷的关系[J]. 园艺学报，44(6)：1125-1134.]

WAN HH, YU C,HAN Y, et al., 2019. Determination of flavonoids and carotenoids and their contributions to various colors of rose cultivars (*Rosa* spp.) [J]. Front Plant Sci, 10: 123.

WANG LS, HASHIMOTO F, SHIRAISHI A, et al., 2004. Chemical taxonomy of the Xibei tree peony from China by floral pigmentation[J]. J Plant Res, 117(1): 47-55.

WANG Y, ZHANG GH, HE JS, et al., 2020. Research progress of *Rhododendron* flower color[J]. World For Res, 33(5): 19-24.[王禹，张广辉，赫京生，等，2020. 杜鹃花色研究进展[J]. 世界林业研究，33(5)：19-24.]

WEI LQ, CHONG PF, BAO XG, et al., 2023. Flavonoids in rose of different colors and their relationship with flower color[J]. N Hortic , 528(9): 37-46. [魏丽琴，种培芳，包新光，2023. 不同花色玫瑰类黄酮成分及其与花色关系[J]. 北方园艺，528(9)：37-46.]

WU M, FENG H, SONG J, et al., 2020. Structural elucidation and immunomodulatory activity of a neutral polysaccharide from the Kushui Rose (*Rosa setate* × *Rosa rugosa*) waste [J]. Carbohydrate Polymers, 232 (C): 115804.

XU ZD, ZHAO LY, ZHANG L, et al., 2011. Analysis of genetic diversity and construction of fingerprint of *Rosa rugosa* by SRAP[J]. Sci Agric Sin, 44(8): 1662-1669.[徐宗大，赵兰勇，张玲，等，2011. 玫瑰 SRAP 遗传多样性分析与品种指纹图谱构建[J]. 中国农业科学，44(8)：1662-1669.]

YANG ZY, ZHAO LY, XU ZD, 2011. Impacts of salt stress on the growth and physiological characteristics of *Rosa rugosa*[J]. Chin J Appl Ecol, 22(8): 1993-1998.[杨志莹，赵兰勇，徐宗大，2011. 盐胁迫对玫瑰生长和生理特性的影响[J]. 应用生态学报，22(8)：1993-1998.]

ZHANG H, SHENG SY, LIAO QL, et al., 2022. Metabolomics-based analysis of flower color differences between white-pink *Rhododendron latoucheae* and purple *Rhododendron latoucheae*[J]. J Hunan Agric Univ(Nat Sci), 48(4): 430-435.[张卉，沈守云，廖秋林，等，2022. 基于代谢组学分析的紫色和白粉色花的鹿角杜鹃呈花色物质差异[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版)，48(4)：430-435.]

ZHANG L, 2015. Study on flower color formation of *Rosa rugosa* Thunb[D]. Tai'an: Shandong Agricultural University. [张玲，2015. 玫瑰（*Rosa rugosa* Thunb.）花瓣显色机理研究[D]. 泰安：山东农业大学.]

ZHANG L, XIU ZD, TANG TF, et al., 2015. Analysis of anthocyanins related compounds and their biosynthesis pathways in *Rosa rugosa* 'Zi zhi' at blooming stages[J]. Sci Agric Sin, 48(13): 2600-2611.[张玲，徐宗大，汤腾飞，等，2015. '紫枝'玫瑰(*Rosa rugosa* 'Zi zhi')开花过程花青素相关化合物及代谢途径分析[J]. 中国农业科学，48(13)：2600-2611.]

ZHANG PY, TANG MM, SONG F, et al., 2022. Bioactive composition, antioxidant, and α-glucosidase inhibition of edible *Areca catechu* waste seed[J]. Sci Technol Food Ind, 43(12): 253-260.[张培月，唐敏敏，宋菲，等，2022. 食用槟榔废弃籽的活性成分提取及抗氧化、α-葡萄糖苷酶抑制活性分析 [J]. 食品工业科技， 3(12)：253-260.]

ZHAO J, XU JW, LIU JG, et al., 2021. Target metabolomic analysis of material composition using a pair of near isogenic lines with different floral colors in sunflower[J]. J Nanjing Agric Univ, 44(3): 437-446.[赵君，徐剑文，刘剑光，等，2021. 观赏向日葵不同花色物质组成的靶标代谢组学分析[J]. 南京农业大学学报，44(3)：437-446.]

ZHAO WW, 2017. Study on the rapid propagation of Rose Rugosa by tissue culture[D]. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University. [赵伟巍，2017. 利用组织培养技术对保加利亚玫瑰快速繁殖的研究[D]. 呼和浩特：内蒙古农业大学.]

ZHONG PX, 2012. The flavonoids compostion in herbaceous peony petals and their effects on the coloration [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University. [钟培星，2012. 芍药花瓣类黄酮成分分析及其对花色的影响[D]. 南京：南京农业大学.]

ZHOU L, WANG Y, PENG ZH, 2009. Advances in study on formation mechanism and genetic engineering of yellow flowers[J]. Sci Silv Sin, 45(2): 111-119.[周琳，王雁，彭镇华，2009. 黄色花形成机制及基因工程研究进展[J]. 林业科学，45(2)：111-119.]

ZOU K, 2018. Cloning and expression on analysis of R_2R_3-MYB genes related to anthocyanin biosynthesis in *Rosa rugosa*[D]. Tai'an: Shandong Agricultural University. [邹凯，2018. 玫瑰花青苷合成相关 R_2R_3-MYB 基因的克隆与表达分析[D]. 泰安：山东农业大学.]